

PERFIL DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E CARBOIDRATOS SOLÚVEIS TOTAIS DE *Scoparia dulcis* L. E *Phyllanthus niruri* L. NATURALMENTE INFECTADAS POR OÍDIO

Allinny Luzia Alves Cavalcante¹
Anne Caroline Almeida Gonçalves²
Virton Rodrigo Targino de Oliveira³
Alyne de Oliveira Amorim⁴
Francisco Fábio Mesquita Oliveira⁵

INTRODUÇÃO

A biodiversidade é definida como a variedade e variabilidade existente entre organismos vivos e as interações ecológicas nas quais ocorrem, e os seus componentes podem oferecer uma vasta gama de produtos economicamente importantes (SIMÕES et al., 2000; LANNA et al., 2012). Plantas e microrganismos compartilham dessa característica, apresentando ampla diversidade taxonômica e estrutural, o que faz com que ocupem diferentes nichos ecológicos, até mesmo os mais hostis (REIS, 2005).

Os microrganismos, em especial os fungos, afetam a sobrevivência dos seus hospedeiros vegetais e, conseqüentemente, o tamanho e a estrutura genética das populações de plantas (BAGCHI et al., 2010). Tal interação é de extremo interesse humano, já que a maior parte da economia mundial é baseada na utilização de espécies vegetais (BARBIERI & CARVALHO, 2001). De modo geral, os fungos fitopatogênicos abrangem extenso grupo de microrganismos que ocupam posições de grande importância tanto nos sistemas agrícolas como em comunidades naturais de plantas e a interação planta-patógeno resultante, altera os diferentes atributos fisiológicos e bioquímicos das plantas, afetando negativamente todo o metabolismo vegetal (BURDON & SILK, 1997; BRETAG et al., 2006).

Dentre as principais doenças fúngicas que acometem as plantas destaca-se oídio, tanto do ponto de vista econômico como do ponto de vista ecológico, por haverem muitas espécies de patógenos causadores da doença infectando diversas espécies de plantas hospedeiras (DELIERE et al., 2010; PINTYE et al., 2015). O termo “oídios” é empregado tanto para a doença como para o grupo de fungos Ascomycota, pertencentes à ordem Erysiphales, família Erysiphaceae, patógenos biotróficos obrigatórios que raramente matam o hospedeiro, mas propiciam à planta infectada uma perda resultante de nutrientes, aumento da respiração e a redução da absorção de luz visível (STADNIK & RIVERA, 2001).

Plantas daninhas em sistemas de cultivo têm sido cada vez mais relatadas como fontes de fungos causadores de oídios e a investigação dessa interação é de extrema importância para

¹ Mestranda do Curso de Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-árido - UFERSA, cavalcanteallinny@gmail.com;

² Graduada pelo Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, annegoncalves.c.a@gmail.com;

³ Mestrando do Curso de Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, virtonrodrigo@gmail.com;

⁴ Graduada pelo Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, aline.amorim1@hotmail.com;

⁵ Mestre pelo Curso de Ciências Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, ffabioesquita@gmail.com;

a utilização de técnicas de controle mais abrangentes frente a este problema. *Scoparia dulcis* L. e *Phyllanthus niruri* L. são duas espécies representantes que vêm sendo atingidas por esta infecção. *S. dulcis*, mais conhecida como vassourinha, é uma pequena erva da família Plantaginaceae, cultivada espontaneamente e distribuída em regiões tropicais e subtropicais, que possui flores pequenas de cor branca e pode atingir até 60 cm de comprimento, muitas vezes assumindo hábito rastejante (BARBOSA, 2001; LANNA et al., 2012). É usada como chá com fins medicinais para o tratamento de problemas estomacais, distúrbios menstruais, hipertensão, diabetes, bronquite, além de ter propriedade analgésica e antitérmica (CRUZ, 1982; LATHA & PARI, 2004). *P. niruri* é uma erva anual pequena, pertencente à família Phyllantaceae, que cresce até 40 cm de altura, sendo nativa da floresta amazônica e outras áreas tropicais, incluindo o Sudeste da Ásia, Sul da Índia e China e que ocorre em quase todo território nacional (GIRACH et al., 1994; GARCIA et al., 2004). Suas folhas têm 7-12 cm de comprimento e possui pequenas flores esbranquiçadas (BAGALKOTKAR et al., 2006). São conhecidas por quebra-pedra e têm sido empregadas na medicina popular para o tratamento de cálculos renais e urinários, infecções intestinais e urinárias, diabetes e hepatite (CALIXTO et al., 1997). Além dos usos na medicina popular, ambas as espécies são citadas em diversos trabalhos como plantas daninhas em culturas agrícolas economicamente ativas, podendo vir a ser potenciais hospedeiras alternativas de infecções fúngicas como o oídio.

Baseado nisto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de oídio sobre as espécies vegetais acima citadas com o propósito de aumentar a compreensão da resposta à infecção natural, avaliando o conteúdo de pigmentos fotossintéticos e carboidratos solúveis totais.

METODOLOGIA

As amostras das espécies *S. dulcis* e *P. niruri* infectadas por oídio foram coletadas em ambiente natural nas dependências do Campus Central da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, localizada no município de Mossoró, cujo clima característico da região é semiárido de Köppen-Geiger, tipo *BSWh'*, com registro de temperaturas médias em torno dos 27 °C, com mínimas de 18 °C e máximas podendo atingir 39 °C.

Após colhidas, as amostras foram acondicionadas em caixa térmica refrigerada e transportadas ao laboratório, onde foi feita a separação e limpeza das folhas para a realização das análises. Para a quantificação dos pigmentos fotossintéticos (PF) utilizou-se aproximadamente 200 mg de tecido foliar macerados em acetona gelada a 80% (v/v), acrescida de 0,1% (m/v) de carbonato de magnésio (ARNON, 1949). Os extratos foram transferidos para tubos e centrifugados a 2500 rpm durante dez minutos e em seguida, utilizados para as leituras de absorbância em espectrofotômetro UV-visível nos comprimentos de onda de 470, 645 e 666 nm, sendo os resultados expressos em micrograma por grama de massa fresca de tecido foliar ($\mu\text{g g}^{-1}$ MF), mediante utilização das seguintes equações propostas por Lichtenthaler (1987):

$$C_a (\mu\text{g g}^{-1} \text{MF}) = [12,25A_{666 \text{ nm}} - 2,79A_{645 \text{ nm}}] \times \text{FD}$$

$$C_b (\mu\text{g g}^{-1} \text{MF}) = [21,5A_{645 \text{ nm}} - 5,1A_{666 \text{ nm}}] \times \text{FD}$$

$$C_{x+c} (\mu\text{g g}^{-1} \text{MF}) = \frac{1000A_{470 \text{ nm}} - 1,82C_a (\mu\text{g mL}^{-1}) - 85,02C_b (\mu\text{g mL}^{-1})}{198} \times \text{FD}$$

Os teores de carboidratos solúveis totais (CST) foram obtidos a partir de 500 mg de tecido foliar, após a extração a quente com etanol a 80% (v/v) e centrifugação a 1500 rpm durante cinco minutos, utilizando o método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), com leitura

em espectrofotômetro a 490 nm. Os resultados obtidos foram expressos em micrograma por grama de massa fresca ($\mu\text{g g}^{-1}$ MF), mediante construção de curva de regressão utilizando solução padrão de glicose anidra nas concentrações de 0 a 350 $\mu\text{g/mL}$.

As plantas utilizadas no experimento foram selecionadas inteiramente ao acaso, onde foram coletadas cinco amostras (repetições) de folhas a partir de plantas naturalmente infectadas e cinco amostras de plantas não infectadas (controle) para cada espécie. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors e análise de variância (ANOVA), seguindo-se da aplicação do teste de Tukey para detectar diferenças significativas ($p \leq 0,05$), mediante utilização do *software* ASSISTAT® (versão 7.7 beta).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância, para a concentração de clorofilas “a”, “b” e carotenoides totais, revelou significância somente para os fatores “espécie” ($F_{1,108} = 19,6129$) e “pigmentos” ($F_{2,108} = 229,6087$), sendo a interação “espécie” versus “pigmentos” também significativa ($F_{2,108} = 3,1059$), onde *S. dulcis* apresentou menor teor de clorofila “a” e carotenoides em relação a *P. niruri* (33,5037 e 39,6752 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF de clorofila “a” e 14,8252 e 17,9807 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF de carotenoides em *S. dulcis* e *P. niruri*, respectivamente), independentemente da infecção por oídio. Plantas que apresentam maiores médias para teores de clorofila, possuem melhor capacidade de manutenção desses teores que junto à manutenção dos carotenoides, sugere mecanismo mais eficiente na proteção contra danos no aparato fotoquímico (GOMATHI & RAKKIYAPAN, 2011; SANTOS, 2013). Adicionalmente, verificou-se que, independentemente da espécie, a clorofila “a” possui valores mais elevados, seguidos de clorofila “b” e carotenoides, respectivamente (36,5894 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF de clorofila “a”, 21,3521 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF de clorofila “b” e 16,4029 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF de carotenoides para ambas espécies), o que é comum na maioria das espécies vegetais (STREIT et al., 2005). Embora a presença da infecção por oídio, nas duas espécies vegetais estudadas, não tenha provocado uma redução significativa no conteúdo dos pigmentos fotossintéticos, diversos trabalhos mostram que a presença desse fungo afeta negativamente o conteúdo e o processo de fotossíntese, possivelmente pela redução progressiva de componentes dos fotossistemas durante a infecção (HOLLOWAY et al., 1992; AKHKHA et al., 2000; KUZNIAK & SKLODOWSKA, 2001).

Em relação à concentração de carboidratos solúveis totais, a análise de variância revelou significância para os fatores, “espécie” ($F_{1,32} = 83,5973$; $p < 0,0001$) e “condição” ($F_{1,32} = 22,5509$; $p < 0,0001$), sendo a interação “espécie” versus “condição” ($F_{1,32} = 6,2364$; $p = 0,0178$) também significativa, onde *P. niruri* apresentou maior concentração de CST que *S. dulcis*, independentemente da infecção por oídio (25,2825 e 14,9857 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF, respectivamente), sendo que esta, na presença do patógeno apresentou redução na concentração em comparação às plantas saudias, fato que não ocorreu em *P. niruri*, uma vez que a alteração na concentração de carboidratos não foi significativa (de 15,8622 para 12,0919 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF em *S. dulcis* e 19,3202 para 18,1487 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF em *P. niruri*). Tanto *S. dulcis* quanto *P. niruri* apresentaram clorofilas e carboidratos relacionados, em termos de concentração. Ambas concentrações estão intimamente relacionadas, especialmente as clorofilas, uma vez que são os pigmentos responsáveis pela captura da radiação eletromagnética usada na fotossíntese, sendo, portanto, essenciais na conversão da radiação luminosa em energia química, o que interfere diretamente na produtividade dos carboidratos (REID et al., 1991; ALMEIDA et al., 2004; FLORES et al., 2006; JESUS & MARENCO, 2008). As plantas podem exibir concentração de carboidratos bastante variável quando acometidas por doenças ocasionadas por fungos, ocorrendo relatos de um maior acúmulo de carboidratos em tecidos infectados, outros, o acúmulo nos tecidos saudáveis, resultado semelhante ao obtido neste trabalho (ABÖOD & LÖSEL, 2003; GONZALEZ, 2011; BATISTA et al., 2015). Níveis elevados de carboidratos nas plantas,

estimulam o crescimento do hospedeiro e geralmente a severidade do oídio, com isto, é provável que a redução desses níveis no tecido infectado indique mecanismo de defesa para evitar o estabelecimento do microrganismo invasor (COELHO et al., 2000).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É razoável deduzir, com base nos resultados observados, que as espécies estudadas apresentam padrões diferentes de resposta ao oídio, devido às alterações ocorridas. *S. dulcis* aparentemente apresentou resposta mais agressiva em relação ao conteúdo dos pigmentos e carboidratos solúveis que *P. niruri*. Estes dados podem contribuir para estudos adicionais que envolvam os mecanismos de interação espécie-oídio, uma vez que os mesmos são ainda desconhecidos.

Palavras-chave: Clorofilas, Interação planta-patógeno, Oídios, Plantas daninhas, Respostas de defesa.

REFERÊNCIAS

- ABÖOD, J. K. & LÖSEL, D. M. Changes in carbohydrate composition of cucumber leaves during the development of powdery mildew infection. **Plant Pathol.** v. 52, p. 256-265, 2003.
- AKHKHA, A., CLARKE, D. D. & DOMINY, P. J. Relative tolerances of wild and cultivated barley to infection by *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (Syn. *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). II - the effects of infection on photosynthesis and respiration. **Physiol. Mol. Plant Pathol.** v. 62, p. 347-354, 2000.
- ALMEIDA, L. P., ALVARENGA, A. A., CASTRO, E. M., ZANELA, S. M. & VIEIRA, C. V. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. **Ciência Rural**, v. 34 n. 1, p. 83-88, 2004.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiol.** v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
- BAGALKOTKAR, G., SAGINEEDU, S. R., SAAD, M. S. & STANSLAS, J. Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and their pharmacological properties: a review. **J. Pharm. Pharmacol.** v. 58, p. 1559-1570, 2006.
- BAGCHI, R., SWIFIELD, T., GALLERY, R. E., LEWIS, O. T., GRIPENBERG, S., NARAYAN, L. & FRECKLETON, R. P. Testing the Janzen-Connell mechanism: pathogens cause over compensating density dependence in a tropical tree. **Ecol. Lett.** v. 13, p. 1262-1269, 2010.
- BARBIERI, R. L. & CARVALHO, F. I. F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Rev. Bras. Agrobiologia**, v. 7, p. 79-83, 2001.
- BARBOSA, W. L. R. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, p. 12-19, 2001.

BATISTA, R. D., BATISTA, R. D., SANTOS, G. R., BONIFACIO, A. & RODRIGUES, A. C. Respostas antioxidativas em nódulos de caupi inoculado com *Bradyrhizobium*. **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 2, p. 76-88, 2015.

BRETAG, T. W., KEANE, P. J. & PRICE, T. V. The epidemiology and control of ascochyta blight in field peas: a review. **Aust. J. Agric. Res.** v. 57, p. 883-902, 2006.

BURDON, J. J. & SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant pathogenic fungi. **Phytopathology**, v. 87, p. 664-669, 1997.

CALIXTO, J. B., SANTOS, A. R. S., PAULINO, N., CECHINEL FILHO, V. & YUNES, R. A. The plants of the genus *Phyllanthus* as a potential source of new drugs. **Ciênc. Cult.** v. 49, p. 422-432, 1997.

COELHO, M. V. S., CAFÉ FILHO, A. C., LOPES, C. A. & MAROUELLI, W. A. Severidade de oídio em abóbora híbrida sob diferentes lâminas de irrigação e níveis de nitrogênio. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 157-160, 2000.

CRUZ, G. L. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. 2nd ed. Rio de Janeiro: Editora Civilização Brasileira, 599 p. 1982.

DELIERE, L., MICLOT, A. S., SAURIS, P., REY, P. & CALONNEC, A. Efficacy of fungicides with various modes of action in controlling the early stages of an *Erysiphe necator*-induced epidemic. **Pest Manag. Sci.** v. 66, p. 1367-1373, 2010.

DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A. & SMITH, F. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.** v. 28, p. 350-356, 1956.

FLORES, O., GOURLET-FLEURY, S. & PICARD, N. Local disturbance, forest structure and dispersal effects on sapling distribution of light-demanding and shade-tolerant species in a French Guianian forest. **Acta Oecologica**, v. 29, n. 2, p. 141-154, 2006.

GARCIA, C. M., ZANETTI, G. D., ZAGO, A. M., BITTENCOURT, C. F. & HEINZMANN, B. M. Estudo morfo-anatômico de *Phyllanthus niruri* L. e *Phyllanthus tenellus* Roxb. **Acta Farm. Bonaer.** v. 23, p. 67-70, 2004.

GIRACH, R. D., SIDDIQUI, P. A. & KHAN, S. A. Traditional plant remedies among the kondh (Orissa). **Int. J. Pharmacol.** v. 32, p. 274-283, 1994.

GOMATHI, R. & RAKKIYAPAN, P. Comparative lipid peroxidation, leaf membrane ther most ability, and antioxidant systemin four sugarcane genotypes differing in salt tolerance. **Int. J. Plant Physiol. Biochem.** v. 3, n. 4, p. 67-74, 2011.

GONZALEZ, G. C. 2011. **Estresse oxidativo em clones de seringueira sob ataque de oídio**. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Faculdade de Ciências Agrônômicas. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2011.

HOLLOWAY, P. J., MACLEAN, D. J. & SCOTT, K. J. Electron transport in thylakoids isolated from barley leaves infected by powdery mildew fungus (*Erysiphe graminis* DC. ex Merat f. sp. *hordei* Marchal. **New Phytol.** v. 120, p. 145-151, 1992.

JESUS, S. V. & MARENCO, R. A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazônica**, v. 38, n. 4, p. 815-818, 2008.

KUZNIAK, E. & SKLODOWSKA, M. Ascorbate, glutathione and related enzymes in chloroplasts of tomato leaves infected by *Botrytis cinerea*. **Plant Sci.** v. 160, p. 723-731, 2001.

LANNA, E. G., SANTOS, C. F. B. A., OLIVEIRA E SOUZA, L. & BITTENCOURT, A. H. Avaliação preliminar de metabólitos secundários em *Scoparia dulcis* L. e atividade molúscida sobre *Achatina fulica*. **Rev. Cient. Faminas**, v. 8, n. 2, p. 37-46, 2012.

LATHA, M. & PARI, L. Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* on blood glucose, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 37, p. 577-586, 2004.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L., DOUCE, R. (Eds.). **Methods in enzymology**. London: Academic Press. p. 350-381, 1987.

PINTYE, A., ROPARS, J., HARVEY, N., SHIN, H-D., LEYRONAS, C. & NICOT, P. C. Host Phenology and Geography as Drivers of Differentiation in Generalist Fungal Mycoparasites. **PLoS One**, v. 10, n. 3, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120703>.

REID, D. M., BEALL, F. D. & PHARIS, R. P. Environmental Cues in Plant Growth and Development. In: STEWARD, F.C. (Ed.). **Plant Physiology**. San Diego: Academic Press Inc. p. 65-181, 1991.

REIS, V. R. **Interações entre plantas e microrganismos**. Documentos n. 194, Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 24p. 2005.

SANTOS, C. M. 2013. **Mecanismos fisiológicos e bioquímicos da cana-de-açúcar sob estresses induzidos por deficiência hídrica e paraquat**. 93 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2013.

SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A. & PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3rd ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 833 p. 2000.

STADNIK, M. J. & RIVERA, M. C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 484 p. 2001.

STREIT, N. M., CANTERLE, L. P., CANTO, M. V. & HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.